

Elmar Englmaier

UNTERSUCHUNGEN
ZUR ADAPTATION DES AKTIVEN
INTESTINALEN GLUCOSETRANSPORTS
AN ISOLIERTEN
BÜRSTENSAUMMEMBRANVESIKELN

Duss München
1983



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554013_0097

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter Leitung von
Prof. Dr. E. Scharrer

UNTERSUCHUNGEN ZUR ADAPTATION DES AKTIVEN
INTESTINALEN GLUCOSETRANSPORTS AN ISOLIERTEN
BÜRSTENSAUMMEMBRANVESIKELN

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität München

von
Elmar Englmaier
aus
Kraiburg

München 1983

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. G. Terplan

Referent: Prof. Dr. E. Scharrer

Korreferent: Prof. Dr. A. Petter

Tag der Promotion: 29. Juli 1983

Meinen Eltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
LITERATUR	
Allgemeines zur Glucoseresorption	2
Fütterungsbedingte Veränderungen des intestinalen Glucosetransportes	3
Einfluß von Hormonen	4
Rolle des cAMP	5
Einfluß des Alters	6
Physikalische Einflüsse	6
Chemische Einflüsse	7
MATERIAL UND METHODEN	
Tiermaterial und Fütterung	8
Isolation der Bürstensaummembranen	12
Bestimmung der Blutglucose	14
Bestimmung der Saccharaseaktivität	14
Bestimmung des Proteingehaltes	16
Berechnung des Anreicherungs-faktors	17
Versuchsbedingungen und Versuchstechnik	17
Berechnung der Glucoseaufnahme in die Bürstensaummembranvesikel	21
Statistik	22
ERGEBNISSE	
Zeitverlauf der Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembranvesikel von diabe- tischen Ratten und Kontrolltieren (Fütterung: Altromin)	
Konzentration von D-Glucose: 1 mmol/l	23

Konzentration von D-Glucose: 3 mmol/l	26
Konzentration von D-Glucose: 8 mmol/l	29
Zeitverlauf der Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembranvesikel von HK- sowie von HF-Ratten	29
Zeitverlauf der Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembranvesikel von diabe- tischen HF-Ratten und HF-Kontrollratten	34
DISKUSSION	40
ZUSAMMENFASSUNG	45
SUMMARY	47
SCHRIFTTUM	49

E I N L E I T U N G

In einigen Arbeiten wurde gezeigt, daß eine Erhöhung der Kohlenhydratzufuhr über die Nahrung zu einer Stimulierung der intestinalen Glucoseresorption führt (Deren et al., 1967, Ginsburg und Heggeness, 1968, Kelch, 1973, Scharrer et al., 1981). Ebenso ging ein experimentell induzierter Diabetes mellitus mit einer Steigerung der intestinalen Glucoseresorption einher (Hopfer, 1975, Csáky und Fischer, 1977, Thomson, 1981).

Ziel dieser Arbeit war es daher, einen Beitrag zur Klärung der Rolle der intestinalen Bürstensaummembran bei den genannten adaptiven Veränderungen der intestinalen Glucoseresorption zu leisten, da über die Adaptabilität des Monosaccharidtransportsystems der intestinalen Bürstensaummembran fast nichts bekannt ist.

Für die Untersuchung intestinaler Resorptionsprozesse existiert seit relativ kurzer Zeit die Möglichkeit der Isolierung von Bürstensaummembranvesikeln. Den Untersuchungen am intakten Darm gegenüber bietet diese Präparation verschiedene Vorteile. Es läßt sich die Energiebereitstellung für aktive Transportprozesse kontrollieren. Der Transport des Substrates wird zudem kaum durch eine metabolische Transformation beeinträchtigt und somit die Komplexität des transepithelialen Transports herabgesetzt. Dies ermöglicht eine isolierte Betrachtung der Vorgänge an der Bürstensaummembran (Hopfer, 1977).

L I T E R A T U R

ALLGEMEINES ZUR GLUCOSERESORPTION

Der Bürstensaum des Darmepithels ist als "Sitz" des Transportsystems für die Resorption von Monosacchariden aus dem Dünndarm anzusehen (Crane, Hamilton und McMichael, 1968).

Dabei ist im Vergleich zu anderen Darmabschnitten die Transportkapazität im mittleren Teil des Jejunums am größten (Crane, 1960, Madge, 1972, Hopfer et al., 1976). Es ist allgemein akzeptiert, daß es sich bei der Aufnahme von Zuckern in die Epithelzelle um einen durch Natrium stimulierten Transportmechanismus handelt (Schultz und Curran, 1970, Hopfer et al., 1973, Goldner, 1973).

Wesentlich für diesen Vorgang ist das Vorhandensein eines elektrochemischen Na^+ -Gefälles über die intestinale Bürstensaummembran hinweg (Murer und Hopfer, 1974, Kessler et al., 1978), das die Energie für den Bergauftransport von Monosacchariden in die Epithelzelle hinein bereitstellt. Der Austritt von Monosacchariden durch die basolaterale Membran der Epithelzelle hingegen scheint durch erleichterte Diffusion zu erfolgen.

Während für den Fructosetransport ein eigener Carrier der Bürstensaummembran verantwortlich ist (Gracey et al., 1972), scheint für den Transport von Glucose und Galactose ein gemeinsames Carriersystem in der Bürstensaummembran zu existieren (Crane et al., 1976, Suzuki, 1978, Kleinzeller et al., 1967).

Es gelang in neuerer Zeit, diesen Carrier, der ein Protein darstellt, näher zu charakterisieren (Faust und Shearin, 1974, Billington und Nayudu, 1978, Whitmore und Wheeler, 1980).

Neben diesem aktiven Transportmechanismus für die Glucose- und Galactoseresorption wird zur Zeit ein zusätzliches Natrium-unabhängiges Zuckertransportsystem der Bürstensaummembran diskutiert, das aber von untergeordneter Bedeutung zu sein scheint (Kit Yin Ling et al., 1981, Hilden und Sacktor, 1982, Klip et al., 1979).

FÜTTERUNGSBEDINGTE VERÄNDERUNGEN DES INTESTINALEN GLUCOSETRANSPORTS

Unabhängig von der Zusammensetzung der Nahrung, läßt sich allein durch Futterentzug oder intermittierendes Füttern eine Änderung der Transportvorgänge im Darm hervorrufen. Leveille und Chakrabarty (1968) fanden bei Mahlzeiten-gefütterten Ratten eine signifikante Erhöhung der intestinalen Glucoseaufnahme und -utilisation. Des weiteren zeigten zahlreiche Untersucher eine Steigerung der Glucose-resorptionsrate bei Tieren, die gehungert hatten (Crouzoulon et al., 1968, McManus und Isselbacher, 1970, Debnam und Levin, 1971 und 1975).

Demgegenüber fanden Groseclose und Hopfer (1978) bei Untersuchungen an isolierten Bürstensaummembran-vesikeln keine Steigerung des intestinalen Glucose-transportes bei unterernährten Ratten.

Veränderungen im Kohlenhydratgehalt des Futters wirken sich ebenfalls auf die Zuckerresorption im Dünndarm aus. Eine Diät mit hohem Kohlenhydratgehalt führt gegenüber einer Diät mit geringem Kohlenhydratgehalt zu einer Stimulierung des intestinalen Glucosetransportes in vivo wie in vitro (Deren et al., 1967, Ginsburg und Heggeness, 1968, Kelch, 1973, Scharrer et al., 1981).

Eine kohlenhydratreiche Diät führt im Vergleich zu einer proteinreichen Diät ebenfalls zu einer Steigerung des Glucosestoffwechsels im Intestinum (Scharrer und Zucker, 1969).

Auch Vitamin D₃ scheint den Glucosetransport durch die intestinale Bürstensaummembran zu beeinflussen. So fanden Peterlik et al. (1981) bei Vitamin D₃-Mangelratten gegenüber Kontrollratten eine deutliche Verringerung des Glucosetransports durch die intestinale Bürstensaummembran.

Schließlich existiert eine Reihe von Futterzusatzstoffen, die stimulierend oder auch depressiv auf die Glucoseresorption im Intestinum wirken (Madge, 1969 und 1973).

EINFLUSS VON HORMONEN

Levin und Smith zeigten 1963, daß Hyperthyreoidismus über eine gesteigerte Stoffwechselrate des Darmepithels und ein erhöhtes Intestinalgewicht zu einer Stimulierung der Glucoseresorption führt. Versuche von Bronk und Parsons (1965) zeigten einen gegenteiligen Effekt. Intravenöse Pentastringabe, sowie eine Stimulierung der endogenen Gastrinausschüttung bewirken eine

Abnahme des Glucosetransports im Dünndarm (Bynum et al., 1971). Havivi und Levitan (1971) stellten an hypophysektomierten Ratten eine erhöhte Glucose-resorption bei unverändertem Verzehr fest. Bestimmte Prostaglandine bewirkten beim Menschen eine Verringerung des intestinalen Glucosetransports (Matuchansky und Bernier, 1973). Nach Prolaktin-gabe war eine Steigerung der intestinalen Glucoseresorption zu registrieren (Mainoya, 1975).

Diabetes verursacht, ebenso wie partieller Futter-entzug eine Stimulierung der intestinalen Resorption von Zuckern (Olsen und Rosenberg, 1970, Rudo et al., 1976, Hopfer, 1975, Wilson und Schedl, 1978, Thomson, 1981). Durch Glucagoninjektionen kann außerdem eine erhöhte intestinale Zuckerresorption bewirkt werden (Neil und Rosenberg, 1973). Beim genetisch bedingten Diabetes mellitus konnte im Gegensatz zum durch Drogen induzierten keine Transportänderung festgestellt werden (Ramaswamy et al., 1980, Bennets und Ramaswamy, 1980).

ROLLE DES cAMP

Bei Versuchen mit isolierten Bürstensaummembranvesikeln aus dem Dünndarm der Ratte konnte durch Zusatz von cAMP zum Inkubationsmedium bei Bestehen eines transmembranalen Na^+ -Gradienten eine gesteigerte Aufnahme von Aminosäuren festgestellt werden (Murer et al., 1977).

Hopfer (1975) fand in Zusammenhang mit einem erhöhten Glucosetransport bei diabetischen Ratten eine signifikant vergrößerte cAMP-Konzentration in der

Mucosa. Die Wirkung des cAMP wird in einer Stabilisierung des Na^+ -Gradienten durch eine herabgesetzte Na^+ -Permeabilität der Membran über die Phosphorylierung eines Membranproteins vermutet (Murer et al., 1977). Das cAMP wird als möglicher Informationsträger für eine Änderung der membranalen Transportprozesse gesehen (Hopfer, 1975).

EINFLUSS DES ALTERS

Ein aktiver Na^+ -abhängiger Glucosetransport wurde bereits bei fetalen Ratten nachgewiesen (Potter et al., 1982).

Beim Wiederkäuer wird mit der Entwicklung des Vormagensystems der Monosaccharidtransport rudimentär (Scharrer et al., 1979). Auch das Haushuhn zeigt mit zunehmendem Alter eine Abnahme des intestinalen Glucosetransports (Scharrer, 1972, Raheja et al., 1977).

PHYSIKALISCHE EINFLÜSSE

Jordana und Ponz (1969) zeigten, daß nach Röntgenbestrahlung die Zuckertransportkapazität im Intestinum sinkt. Bei Kälteexposition des Organismus kommt es zu einer Steigerung der Glucoseresorption (Carpenter und Musacchia, 1978).

CHEMISCHE EINFLÜSSE

Viele chemische Verbindungen bewirken eine Änderung des intestinalen Glucosetransportes. Einige, wie z.B. die Biguanide, werden therapeutisch eingesetzt (Caspary, 1970, Robinson und Luisier, 1973, Pearson et al., 1980).

Eine wichtige Rolle in der experimentellen Physiologie spielen auch die Hemmer der verschiedenen membranalen Carriersysteme. Gut untersucht ist die kompetitive Hemmung des Glucosetransports in der Bürstensaummembran durch Phlorizin (Tannenbaum et al., 1977, Lemaire und Maestracchi, 1978, Gibbs et al., 1982).

M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

TIERMATERIAL UND FÜTTERUNG

Alle Versuche wurden mit männlichen Ratten vom Stamm Sprague-Dawley (Institut für wissenschaftliche Versuchstierzucht GmbH, Gelting bei München) durchgeführt. Bei der Aufstallung betrug das Körpergewicht 220-240 g. Die Tiere wurden in durchsichtigen Kunststoffkäfigen zu zweien gehalten. Die Raumtemperatur lag bei 25 ± 1 °C. Verfüttert wurde eine Haltdiät für Ratten (Altromin-1324, Altromin Spezialfuttermittel GmbH, Lange Straße 40, 4937 Lage¹⁾), sowie eine kohlenhydratreiche (HK) und eine fettreiche Diät (HF, siehe Tabellen 1 und 2).

Futter und Wasser wurden ad libitum angeboten.

Bei einer Gruppe von Tieren wurde durch einmalige intraperitoneale Injektion des Antibiotikums Streptozotocin (Upjohn Company, Fine Chemical Division, Kalamazoo Michigan 49001 USA, Lot 60, 273-4)

Diabetes mellitus erzeugt. Die Dosierung lag bei 70 mg/kg Körpergewicht (Baxter und Schofield, 1980). Zur Injektion wurde das Streptozotocin (20 mg/ml) in 0.9 %iger NaCl, die mit Zitronensäure (0.5 mol/l) auf pH 4.5 gebracht worden war, gelöst.

Etwa 48 h nach der Injektion konnte eine Blutzuckererhöhung festgestellt werden (ca. 350 mg/ml).

Die Tiere jeder Gruppe kamen nach ca. 14 Tagen in den Versuch.

1) Zusammensetzung:	Rohprotein	19.0
	Rohfett	4.0
	Rohfaser	6.0
	Asche	7.0
	Wasser	13.5
	NFE	<u>50.5</u>
		100.0

Tabelle 1

Zusammensetzung der HF-Diät

Kasein ¹⁾	12.98
Vitaminmischung ²⁾	2.00
Mineralsalzmischung ³⁾	4.99
DL-Methionin	0.12
Sojaöl	3.54
Lupolenpulver ⁴⁾	39.96
Rindertalg	23.51
Schweineschmalz	12.90
	100.00

Tabelle 2

Zusammensetzung der HK-Diät

Kasein ¹⁾	12.98
Vitaminmischung ²⁾	2.00
Mineralsalzmischung ³⁾	4.99
DL-Methionin	0.12
Sojaöl	3.33
Maisstärke	76.58
	100.00

1) mit 1% DL-Methionin supplementiert

2) siehe Tabelle 4

3) siehe Tabelle 3

4) Kunststoffpulver, BASF Ludwigshafen

Tabelle 3

Zusammensetzung der Mineralsalzmischung

CaCO_3	25.00 g
$\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$	23.40 g
K_2HPO_4	21.65 g
NaCl	13.30 g
Na_2HPO_4	6.66 g
MgSO_4	8.32 g
Fe-Citrat	0.74 g
MnSO_4	0.76 g
ZnCO_3	66.00 mg
CuSO_4	32.00 mg
KJ	66.00 mg
NaF	8.00 mg
	100.00 g

Tabelle 4

Zusammensetzung der Vitaminmischung

Vitamin A (25000 I.E.)	50.00 mg
Vitamin D ₃ (5000 I.E.)	12.50 mg
Vitamin E	0.50 g
Vitamin K ₃	10.00 mg
Vitamin C	0.10 g
Vitamin B ₁ x HCL	0.10 g
Vitamin B ₂	0.10 g
Vitamin B ₆ x HCL	50.00 mg
Vitamin B ₁₂	0.15 mg
Biotin	1.00 mg
Folsäure	10.00 mg
Nikotinsäure	0.25 g
Ca-Pantothenat	0.25 g
Cholinchlorid	10.00 g
Maisstärke	<u>88.57 g</u>
	100.00 g

ISOLATION DER BÜRSTENSAUMMEMBRANEN (BSM)

Die Isolierung der BSM erfolgte nach der Methode von Kessler et al. (1978). Pro Versuch wurde die Dünndarmmucosa von vier Ratten benötigt. Die Tiere wurden mit Äther narkotisiert, anschließend wurde der gesamte Dünndarm entnommen und in eine 0.9 %ige NaCl-Lösung verbracht, die eine Temperatur von 4 °C hatte. Die folgenden Isolationsschritte wurden bei derselben Temperatur durchgeführt. Das Jejunum wurde aufgeschnitten und der Darminhalt mit der physiologischen Kochsalzlösung abgespült. Anschließend wurde die Mucosa mit einem Objektträger vollständig abgeschabt und in einem Waring-Blendor (Waring Products Division, New Hartford, USA) mit 180 ml des Puffers I (Zusammensetzung siehe Tabelle 5) 2 min bei Höchstgeschwindigkeit homogenisiert. Von dem Mucosahomogenat wurden 2 ml zur Bestimmung der Saccharaseaktivität eingefroren. 150 ml des Homogenates wurden mit soviel $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ versetzt, daß eine Ca-Endkonzentration von 10 mmol/l erreicht wurde. Anschließend wurde das Homogenat für 15-20 min stehengelassen. Daraufhin wurde in einer Kühlzentrifuge bei 3000 g 15 min lang zentrifugiert. Der erhaltene Überstand wurde bei 27000 g 30 min lang zentrifugiert. Hierbei wurde ein Pellet erhalten, das mit 40 ml Puffer II (siehe Tabelle 5) unter Verwendung eines Glas-Teflon-Homogenisators bei 1000 Umdrehungen/min homogenisiert wurde. Dieses Homogenat wurde auf zwei Zentrifugenbecher verteilt und wiederum 30 min bei 27000 g zentrifugiert. Die dabei erhaltenen Pellets, in denen die BSM angereichert waren, wurden

Tabelle 5 : Zusammensetzung der Puffer

Zusammensetzung des Puffers I :

50 mmol/l D-Mannit
2 mmol/l Tris¹⁾
mit HCl auf pH 7.1 eingestellt

Zusammensetzung des Puffers II :

50 mmol/l D-Mannit
10 mmol/l Hepes²⁾
mit Tris auf pH 7.5 eingestellt

Zusammensetzung des Puffers III :

300 mmol/l D-Mannit
1 mmol/l Tris
1 mmol/l Hepes
für Versuche mit Na-Gradient

Zusammensetzung des Puffers IV :

100 mmol/l D-Mannit
100 mmol/l NaCl
1 mmol/l Tris
1 mmol/l Hepes
für Versuche mit Na-Gleichgewicht

1) Tris (hydroxymethyl)-aminomethan, E. Merck,
Darmstadt

2) N-2'-Hydroxyäthylpiperazin-2-äthan-sulfon=
säure, Serva Feinbiochemica, Heidelberg

mit je 1 ml des Puffers III bzw. IV (siehe Tabelle 5) 45 sec im Glas-Teflon-Homogenisator bei 1000 Umdrehungen/min homogenisiert. Die so erhaltene BSM-Suspension wurde in Eiswasser aufbewahrt. Zur Bestimmung der Saccharaseaktivität wurden 0.2 ml der BSM-Suspension in Puffer III entnommen und eingefroren.

BESTIMMUNG DER BLUTGLUCOSE

Die Bestimmung der Blutglucose wurde mittels der GOD-Perid^R-Methode (Boehringer Mannheim GmbH, Diagnostica) durchgeführt.

BESTIMMUNG DER SACCHARASEAKTIVITÄT

Um Aufschluß über die Reinheit der isolierten Bürstensaummembranen zu erhalten, wurde die Aktivität des in der BSM lokalisierten Enzyms Saccharase bestimmt. Dabei wurde die Saccharaseaktivität im Mucosahomogenat mit derjenigen der isolierten Bürstensaummembranen verglichen. Die Bestimmung erfolgte nach der Methode von Dahlquist (1964). Zur Saccharasebestimmung wurde eine Lösung von 0.056 mol/l Saccharose (Baker Chemicals B.V., Deventer/Holland) in Maleatpuffer (0.1 mmol/l) benötigt, der mit 1N NaOH auf den pH-Wert von 5.8 eingestellt war. Im Reaktionsansatz wurden 0.1 ml Probe (Homogenat bzw. BSM-Suspension) mit 0.1 ml der entsprechenden Substratlösung in einem Zentrifugenglas bei 37 °C im Schüttelwasserbad inkubiert, nachdem vorher noch ein Tropfen Toluol zugegeben worden

war. Hierbei waren die Homogenatproben nicht, die BSM-Proben jedoch 1 : 51 verdünnt. Nach 60 min wurden 0.8 ml destilliertes Wasser zugegeben, worauf man die Reaktion durch zweiminütiges Kochen in einem entsprechend erhitzten Wasserbad stoppte. Anschließend wurden die Reaktionsgefäße unter fließendem Wasser abgekühlt. Zu den jeweiligen Proben wurden Leerwerte angesetzt, die mit Ausnahme der Inkubation gleich behandelt wurden. Zur Bestimmung der aus der Saccharose freigesetzten Glucose wurden 0.2 ml Probe mit 0.33 N Perchlorsäure¹⁾ enteiweißt. Anschließend wurde mit der GOD-Perid^R-Methode²⁾ der Glucosegehalt ermittelt. Die freigesetzte Glucose wurde nach der Formel

$$\frac{(\text{Extinktion}_P - \text{Extinktion}_L) \times 5.55}{\text{Extinktion}_S} = \mu\text{mol Glucose/ml}$$

P : Probe

L : Leerwert

S : Standard

berechnet. Dabei wurde eine Glucosestandardlösung verwendet, deren Konzentration 0.505 mmol/l betrug. Zur Ermittlung der gespaltenen Saccharosemenge wurde die Verdünnung des Ansatzes mit 0.8 ml destillierten Wassers und die Vorverdünnung der BSM-Suspension von 1 : 51 berücksichtigt. Darüberhinaus war in Abweichung zur Vorschrift des Blutzuckertestes

1) Perchlorsäure, Boehringer Mannheim GmbH

2) Glucosetest, Boehringer Mannheim GmbH

das doppelte Volumen enteiweißt worden, was folgende Formel für die gespaltene Saccharosemenge ergibt :

$$\frac{(\text{Extinktion}_P - \text{Extinktion}_L) \times 5.55 \times V}{\text{Extinktion}_S \times 2} = \mu\text{mol Glucose} / \text{ml}$$

V : Verdünnung

Die Ermittlung der spezifischen Saccharaseaktivität (E/g Protein) erfolgte über die Formel :

$$\frac{\mu\text{mol gespaltene Saccharose/ml} \times 1000}{\text{mg Protein/ml Probe} \times \text{Inkubationszeit(min)}} = \text{E/g Protein}$$

Dabei ist E definiert als die Enzymaktivität, die in 1 Minute 1 μmol Saccharose spaltet.

BESTIMMUNG DES PROTEINGEHALTES

Die Bestimmung des Proteingehaltes wurde nach der Methode von Lowry, modifiziert nach Miller (Miller, 1959) durchgeführt. Homogenat und BSM-Suspension wurden mit ihren jeweiligen Pufferlösungen 1 : 16 vorverdünnt. Dann wurde 1 ml der 1 : 16 verdünnten Probe 10 min bei 50 °C mit 1 ml alkalischem Kupferreagenz (zehn Teile 10 %iges Natriumkarbonat in 0.5 N Natronlauge plus ein Teil 0.5 %iges Kupfersulfat in 1 %iger Kaliumtartratlösung) in einem Schüttelwasserbad inkubiert. Anschließend wurden 3 ml Folin-Phenolreagenz zugegeben und nach kräftigem Schütteln erneut 15 min bei 50 °C inkubiert. Danach ließ man die Proben 20 min bei Raumtemperatur (ca 20 °C) abkühlen. Die Messung erfolgte bei 578 nm gegen einen Leerwert. Im Leerwertansatz befand sich

statt der Probe eine entsprechende Menge desjenigen Puffers, in dem Homogenat bzw. BSM suspendiert waren. Der Proteingehalt wurde mittels eines Extinktionsfaktors ermittelt, der aus einer Rinderalbumineichkurve berechnet worden war. Hierzu wurde folgende Formel benutzt:

$$\text{Faktor} \times \text{Extinktion}_{\text{Probe}} \times \text{Verdünnung} = \text{mg Protein/ml}$$

BERECHNUNG DES ANREICHERUNGSFAKTORS

Die Saccharase wurde als Marker-Enzym für die Bürstensaummembran gewählt, da sie als Disaccharidase überwiegend in der BSM lokalisiert ist (Douglas et al., 1972, Eichholz, 1967). Zur Beurteilung der Reinheit der isolierten BSM wurde ein Anreicherungsfaktor ermittelt. Er ergab sich aus der Division der spezifischen Saccharaseaktivität in der BSM durch die spezifische Saccharaseaktivität im Mucosahomogenat.

VERSUCHSBEDINGUNGEN UND VERSUCHSTECHNIK

Es wurde die Aufnahme von ^{14}C -markierter D-Glucose in die Bürstensaummembranvesikel nach unterschiedlicher Inkubationsdauer und unter verschiedenen Inkubationsbedingungen gemessen. Dabei wurde bei einem Teil der Experimente ein Natrium-Gradient von 100 mmol/l in Richtung auf das BSM-Vesikellumen vorgelegt, während bei einem anderen Teil der Experimente ein Natriumgleichgewicht in der Höhe von 100 mmol/l zwischen dem BSM-Vesikellumen und dem

Inkubationsmedium herrschte. Im Inkubationsansatz wurden 0.02 ml Versuchslösung vorgegeben, zu der 0.01 ml der BSM-Suspension pipettiert wurde. Ca. fünf Sekunden vor Ende der Inkubationszeit wurden davon 0.02 ml entnommen und nach Ablauf der gewählten Zeit in eine Absaugvorrichtung¹⁾ übergeführt. Darin waren 1 ml einer eisgekühlten Waschlösung (siehe Tabelle 7) vorgelegt. Daraufhin wurde mit 3 ml dieser Lösung nachgespült und 20 sec lang abgesaugt. Eine Vakuumpumpe²⁾ erzeugte den nötigen Unterdruck. Um die in der Absaugvorrichtung befindlichen Filter³⁾ anzufeuchten war vorher 1 ml der Waschlösung durchgesaugt worden. Nach Beendigung des Absaugvorganges wurden die Filter mittels einer Pinzette in ein Szintillationsfläschchen verbracht. Für die Null-Werte wurden zu 0.02 ml des entsprechenden Puffers 0.01 ml der BSM-Suspension gefügt und hiervon 0.02 ml in die Absaugvorrichtung pipettiert. Dazu wurden 0.02 ml der verdünnten Versuchslösung (1 Teil des jeweiligen Puffers plus 2 Teile Versuchslösung) gegeben, sofort nachgespült und abgesaugt. Zur Ermittlung der ^{14}C -Aktivität in der Versuchslösung wurde ein vorgewaschener Filter

1) Pyrex Mikro-Analysen Filterhalter mit Glasfritten-sockel, 25 mm, Millipore-GmbH, Neu-Isenburg

2) Vakuum-Druckluftpumpe 220 V, 50 Hz, Millipore-GmbH, Neu-Isenburg

3) Filter 25 mm, Porengröße 0.45 μm , Millipore-GmbH, Neu-Isenburg

Tabelle 6 : Zusammensetzung der Versuchslösungen
(D-Glucose-Versuche)

Für Versuche mit Na-Gradient (100 mmol/l) :

	Versuch I	Versuch II	Versuch III
NaCl	150 mmol/l	150 mmol/l	150 mmol/l
Tris	1 mmol/l	1 mmol/l	1 mmol/l
Hepes	1 mmol/l	1 mmol/l	1 mmol/l
D-Glucose	1.5 mmol/l	4.5 mmol/l	12 mmol/l

in 5 ml der jeweiligen Versuchslösung waren
0.1mCi ^{14}C -markierte D-Glucose enthalten¹⁾.

Für Versuche mit Na-Gleichgewicht (100 mmol/l) :

	Versuch I	VersuchII	Versuch III
Mannit	100 mmol/l	100 mmol/l	100 mmol/l
NaCl	100 mmol/l	100 mmol/l	100 mmol/l
Tris	1 mmol/l	1 mmol/l	1 mmol/l
Hepes	1 mmol/l	1 mmol/l	1 mmol/l
D-Glucose	1.5 mmol/l	4.5 mmol/l	12 mmol/l

in 5 ml der jeweiligen Versuchslösung waren
0.1mCi ^{14}C -markierte D-Glucose enthalten¹⁾.

1) D-(U- ^{14}C) Glucose, Amersham Buchler, Braunschweig

Tabelle 7 : Zusammensetzung der Waschlösung

0.9 %	NaCl
10 mmol/l	Tris
10 mmol/l	Hepes

in ein Szintillationsfläschchen übergeführt, auf den 0,02 ml der verdünnten Versuchslösung pipettiert wurden. Als Null-Wert wurde die Aktivität eines vorgewaschenen Filters gemessen. Die Szintillationsfläschchen wurden mit 10 ml einer Szintillationsflüssigkeit¹⁾ gefüllt, kräftig geschüttelt und nach 4-6-stündigem Abkühlen 10 min lang in einem Flüssigszintillationszähler gemessen.

BERECHNUNG DER GLUCOSEAUFNAHME IN DIE BÜRSTENSAUM-MEMBRANVESIKEL

Die Aufnahme von D-Glucose in die BSM-Vesikel wurde mittels der aufgenommenen Radioaktivität der Proben errechnet. Da der Anteil der markierten Glucose proportional zur Menge des aufgenommenen Substrates ist, entspricht bei einer Substratkonzentration von 1 mmol/l in der Versuchslösung die Zählrate der Versuchslösung dieser Konzentration. Die auf 1 mg Membranprotein bezogene Substrataufnahme in die BSM-Vesikel erhält man nach folgender (gekürzter) Formel:

$$\frac{\text{Ipm}_{\text{Probe}} \times 20000 \times \text{Substratkonzentration}}{\text{Ipm}_{\text{Versuchslösung}} \times \text{mg Protein}} = \frac{\text{Aufgenommenes}}{\text{Substrat in pmol/mg Protein}}$$

Ipm: Impulse pro Minute in den auf dem Filter befindlichen Vesikeln

¹⁾ Unisolve, Zinsser Analytic GmbH, Frankfurt

STATISTIK

Die Ergebnisse sind in den Tabellen und Abbildungen in Form der Mittelwerte einschließlich des Standardfehlers des Mittelwerts angegeben. Die statistische Auswertung der Gruppenunterschiede erfolgte mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests, sowie des t-Testes nach Student. Dabei wurde die zweiseitige Fragestellung zugrundegelegt. Die Signifikanzschwelle wurde mit $p < 0.05$ festgelegt.

ERGEBNISSE

ZEITVERLAUF DER AUFNAHME VON D-GLUCOSE IN BÜRSTEN-
SAUMMEMBRANVESIKEL VON DIABETISCHEN RATTEN UND
KONTROLLTIEREN (FÜTTERUNG: ALTROMIN)

1. Konzentration von D-Glucose: 1 mmol/l

Bei Bestehen eines Na^+ -Gradienten über die Bürstensaummembran hinweg war die Aufnahme von D-Glucose in die Bürstensaummembranvesikel, verglichen mit der Aufnahme bei Na^+ -Gleichgewicht, bei der Diabetesgruppe nach einer Inkubation von 15 s, 45 s, 75 s und 3 min, bei der Kontrollgruppe nach 15 s, 45 s und 75 s signifikant höher (Tabelle 8). Ferner zeigte sich, daß in der Diabetesgruppe verglichen mit der Kontrollgruppe bei fast allen Inkubationszeiten eine deutliche Mehraufnahme von D-Glucose in die Bürstensaummembranvesikel stattfand (Tab. 8). Die Darstellung der Glucoseaufnahme bei Vorhandensein eines Na^+ -Gradienten in Relation zum Gleichgewichtswert (50-min-Wert = 1) zeigt, daß bei der Diabetesgruppe eine maximale Aufnahme in Höhe des 5,2-fachen Gleichgewichtswertes nach 45 s erreicht war (Abb. 1). In der Kontrollgruppe lag die höchste Aufnahme beim 3,9-fachen des Gleichgewichtswertes und war ebenfalls nach 45 s erreicht (Abb. 1). Dieser sogenannte "overshoot" gibt den durch den transmembranalen Na^+ -Gradienten energetisierten D-Glucose-Transport gegen ein Konzentrationsgefälle wieder.

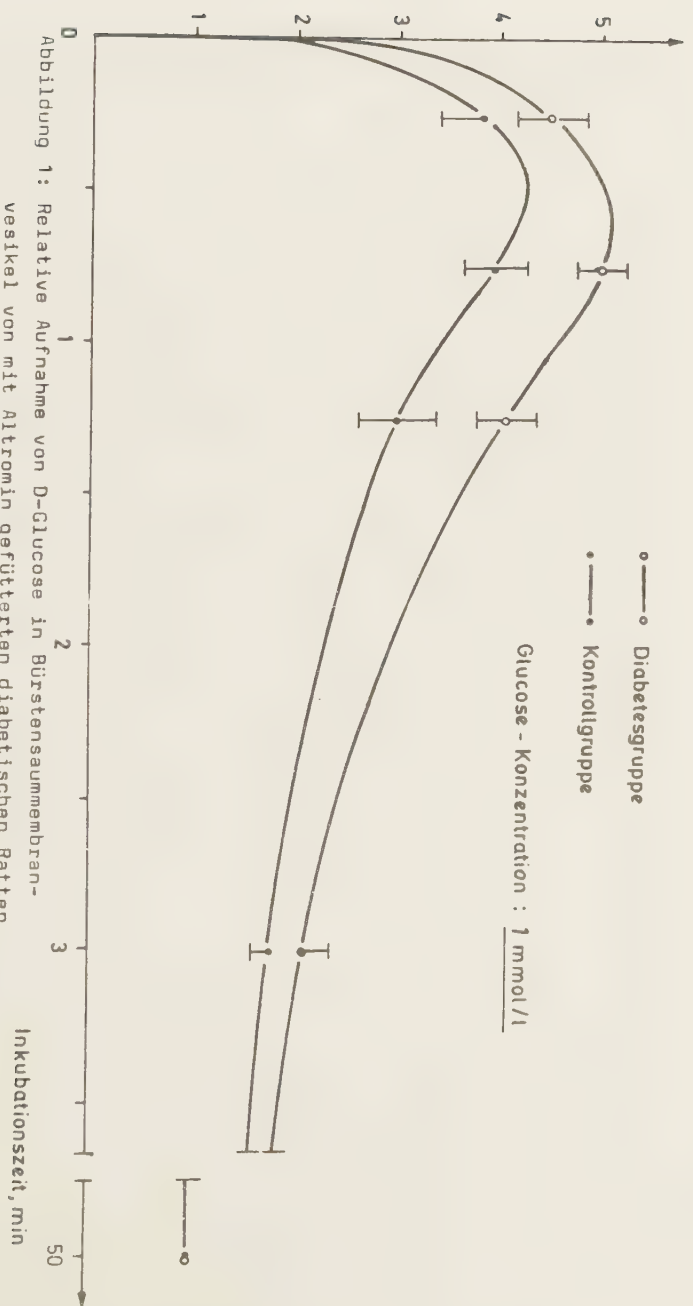
Tabelle A: Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembranvesikel von mit Altromin ernährten Ratten
Konzentration von D-Glucose: 1 mmol/l

Inkubationszeit	Diabetesgruppe (n=6) ¹⁾		Kontrollgruppe (n=6) ¹⁾	
	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)
	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein
15 s	4588 ± 489 ⁺) p < 0.002	1162 ± 58 ^{*)}	1844 ± 322 ⁺) p < 0.004	356 ± 119 ^{*)}
45 s	5222 ± 379 ⁺) p < 0.002	1342 ± 100 ^{*)}	1846 ± 380 ⁺) p < 0.008	447 ± 139 ^{*)}
75 s	4128 ± 333 ⁺) p < 0.002	1415 ± 309 ^{*)}	1405 ± 306 ⁺) p < 0.004	441 ± 155 ^{*)}
3 min	2230 ± 273 ⁺) p < 0.002	1083 ± 78	872 ± 135 ⁺) n.s.	548 ± 235
50 min	1007 ± 78 n.s.	914 ± 122	476 ± 166 n.s.	589 ± 163

1) Anzahl der Versuche in Klammern

+) Unterschied zwischen Diabetesgruppe und Kontrollgruppe signifikant (p < 0.05)
für Gruppe mit Na⁺-Gradient

*) Unterschied zwischen Diabetesgruppe und Kontrollgruppe signifikant (p < 0.05)
für Gruppe ohne Na⁺-Gradient



2. Konzentration von D-Glucose: 3 mmol/l

Bei dieser Substratkonzentration zeigten sich im Prinzip ähnliche Ergebnisse wie bei der D-Glucose-Konzentration von 1 mmol/l.

Die Aufnahme bei Bestehen eines Na^+ -Gradienten verglichen mit der bei Na^+ -Gleichgewicht war sowohl in der Diabetesgruppe als auch in der Kontrollgruppe bei einer Inkubationszeit von 15 s, 45 s und 75 s signifikant höher (Tab. 9). Bei Vorhandensein eines Na^+ -Gradienten war die Aufnahme in der Diabetesgruppe deutlich höher als in der Kontrollgruppe.

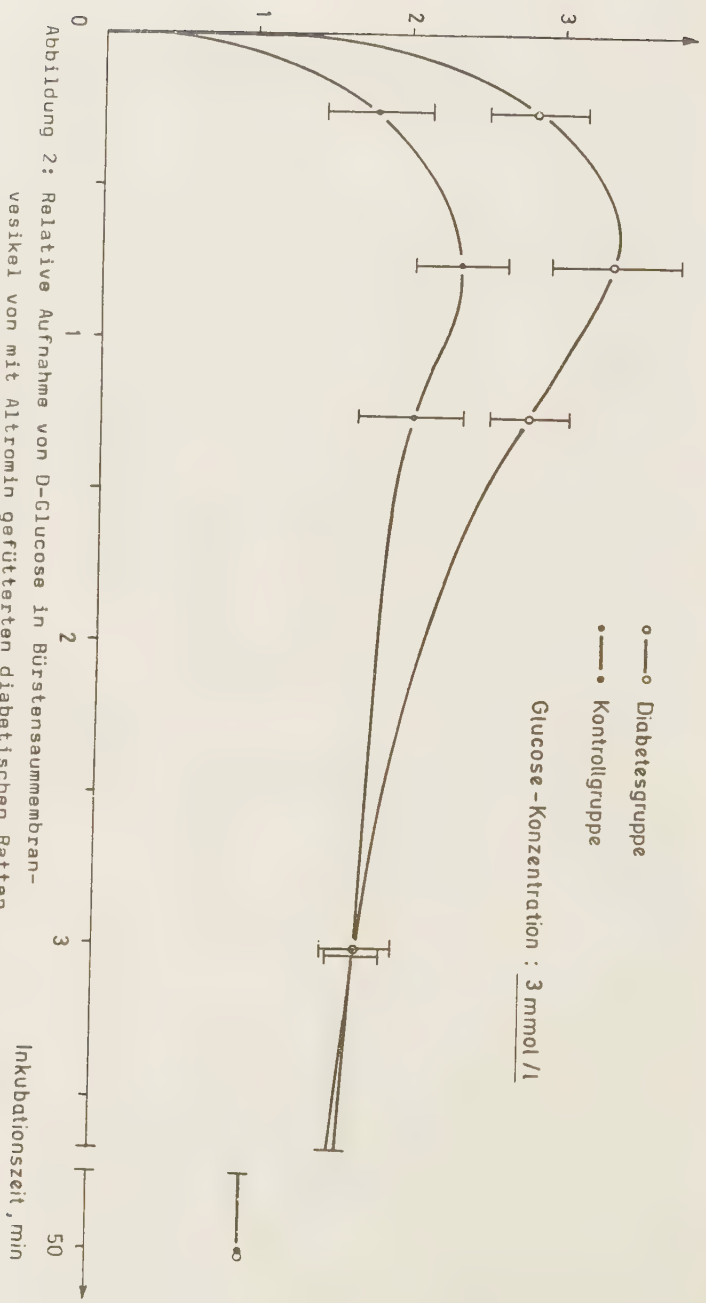
Der aufgetretene Unterschied war nach einer Inkubationszeit von 15 s und 45 s signifikant. Die nach 50-minütiger Inkubation erhaltenen Gleichgewichtswerte waren jedoch nicht signifikant verschieden (Tab. 9).

Die Darstellung der Glucoseaufnahme bei Bestehen eines Na^+ -Gradienten in Relation zum Gleichgewichtswert zeigte bei der Diabetesgruppe eine maximale Aufnahme in Höhe des 3.3-fachen Gleichgewichtswertes, während diese bei der Kontrollgruppe gegenüber dem Gleichgewichtswert um den Faktor 2.3 erhöht war. In beiden Gruppen lag das Maximum der Aufnahme wieder bei einer Inkubationszeit von 45 s (Abb. 2).

Tabelle 9: Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembranvesikel von mit Alstromin ernährten Ratten
Konzentration von D-Glucose: 3 mmol/l

Inkubationszeit	Diabetesgruppe (n=4) ¹⁾		Kontrollgruppe (n=4) ¹⁾	
	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l) pmol/mg Protein	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l) pmol/mg Protein	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l) pmol/mg Protein	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l) pmol/mg Protein
15 s	15894 ± 1382 ⁺)	5614 ± 784	8419 ± 1350 ⁺)	n.s. 4193 ± 872
45 s	18372 ± 2014 ⁺)	6474 ± 1176	10200 ± 1499 ⁺)	p < 0.03 5000 ± 659
75 s	15766 ± 1842	6259 ± 847	9470 ± 1502	p < 0.03 5346 ± 825
3 min	9845 ± 1576	n.s. 6083 ± 736	7854 ± 1023	n.s. 4972 ± 795
50 min	5544 ± 700	n.s. 6662 ± 1416	4346 ± 478	n.s. 5103 ± 821

- 1) Anzahl der Versuche in Klammern
+) Unterschied zwischen Diabetesgruppe und Kontrollgruppe signifikant (p < 0.05)
für Gruppe mit Na⁺-Gradient
•) Unterschied zwischen Diabetesgruppe und Kontrollgruppe signifikant (p < 0.05)
für Gruppe ohne Na⁺-Gradient



3. Konzentration von D-Glucose: 8 mmol/l

Bei dieser Substratkonzentration ergaben sich bei Bestehen eines Na^+ -Gradienten verglichen mit der Aufnahme bei Na^+ -Gleichgewicht in beiden Gruppen noch Unterschiede (siehe Tab. 10). Im Gruppenvergleich waren hier die Werte bei 3-minütiger Inkubation, sowie zum Teil bei 75 s verschieden (Tab. 10). Die Darstellung der Glucoseaufnahme bei Vorhandensein eines Na^+ -Gradienten in Relation zum Gleichgewichtswert ergab in beiden Gruppen zwar noch eine maximale Aufnahme in Höhe des 1.4- (Diabetes-Gruppe) bzw. 1.7-fachen (Kontrollgruppe) Gleichgewichtswerts, ein signifikanter Gruppenunterschied war jedoch nicht mehr nachzuweisen (Abb. 3).

ZEITVERLAUF DER AUFNAHME VON D-GLUCOSE IN BÜRSTEN- SAUMMEMBRANVESIKEL VON HK- SOWIE VON HF-RATTEN

Bei Bestehen eines Na^+ -Gradienten war die Aufnahme von D-Glucose in die Bürstensaummembranvesikel, verglichen mit der Aufnahme bei Na^+ -Gleichgewicht, bei der HK-Gruppe nach einer Inkubation von 15 s, 45 s, 75 s und 3 min, bei der HF-Gruppe nach 15 s und 45 s signifikant erhöht (Tab. 11). Im Gruppenvergleich zeigte die HK-Gruppe eine deutliche Mehraufnahme gegenüber der HF-Gruppe (Tab. 11). Die Darstellung der D-Glucose-Aufnahme bei Bestehen eines Na^+ -Gradienten in Relation zum Gleichgewichtswert zeigte bei der HK-Gruppe eine maximale Aufnahme in Höhe des 3.7-fachen Gleichgewichtswertes nach 15 s. In der HF-Gruppe war diese ebenfalls nach 15 s mit einem Faktor von 3.1 erreicht (Abb. 4). Die Unterschiede in der relativen Aufnahme zwischen

Tabelle 10: Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembranvesikel von mit Altramin ernährten Ratten
Konzentration von D-Glucose: 8 mmol/l

	Diabetesgruppe (n=6) ¹⁾		Kontrollgruppe (n=5) ¹⁾			
	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)		
Inkubationszeit	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein		
15 s	5192 ± 372	p < 0.008	3562 ± 234	5279 ± 438	n.s.	2543 ± 700
45 s	9848 ± 786	p < 0.002	5256 ± 303	7638 ± 755	p < 0.008	3541 ± 768
75 s	11133 ± 471	p < 0.002	6136 ± 403 ^{*)}	8728 ± 893	p < 0.008	3887 ± 835 ^{*)}
3 min	11319 ± 660 ^{*)}	p < 0.004	7197 ± 561 ^{*)}	8396 ± 811 ^{*)}	p < 0.02	4876 ± 614 ^{*)}
50 min	7823 ± 385	n.s.	7478 ± 571	5209 ± 725	n.s.	4825 ± 851

*)

- 1) Anzahl der Versuche in Klammern
- +) Unterschied zwischen Diabetisgruppe und Kontrollgruppe signifikant (p < 0.05)
- *) Unterschied zwischen Diabetisgruppe und Kontrollgruppe signifikant (p < 0.05)

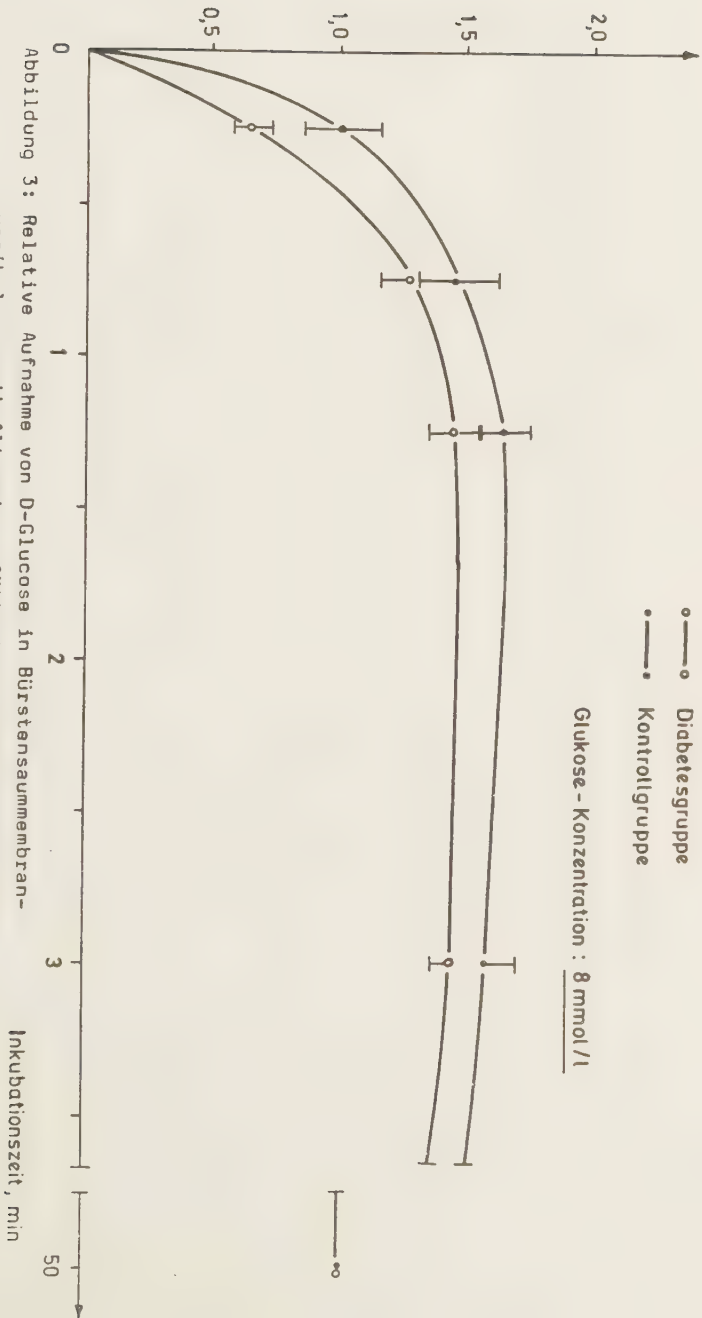


Abbildung 3: Relative Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembran-vesikel von mit Altromin gefütterten diabetischen Ratten und Kontrolltieren; Na⁺-Gradient: 100 mmol/l; Gleichgewichtszustand = 1.

Tabelle 11: Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembranvesikel
Konzentration von D-Glucose: 1mmol/l

Inkubationszeit	HK-Gruppe (n=6) ¹⁾		HF-Gruppe (n=6) ¹⁾	
	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l)
	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein	pmol/mg Protein
15 s	2615 ± 324 ⁺) p < 0.002	667 ± 46 ^{*)}	806 ± 200 ⁺) p < 0.05	226 ± 35 ^{*)}
45 s	2605 ± 307 ⁺) p < 0.002	776 ± 52 ^{*)}	685 ± 98 ⁺) p < 0.05	150 ± 36 ^{*)}
75 s	2123 ± 218 ⁺) p < 0.002	740 ± 58 ^{*)}	593 ± 178 ⁺) n.s.	214 ± 58 ^{*)}
3 min	1399 ± 78 ⁺) p < 0.05	755 ± 150	353 ± 58 ⁺) n.s.	263 ± 108
50 min	700 ± 111 ⁺) n.s.	829 ± 88 ^{*)}	260 ± 42 ⁺) n.s.	387 ± 85 ^{*)}

¹⁾ Anzahl der Versuche in Klammern

^{*)} Unterschied zwischen HK- und HF-Gruppe signifikant (p < 0.05) für Gruppe mit Na⁺-Gradient
^{*)} Unterschied zwischen HK- und HF-Gruppe signifikant (p < 0.05) für Gruppe ohne Na⁺-Gradient

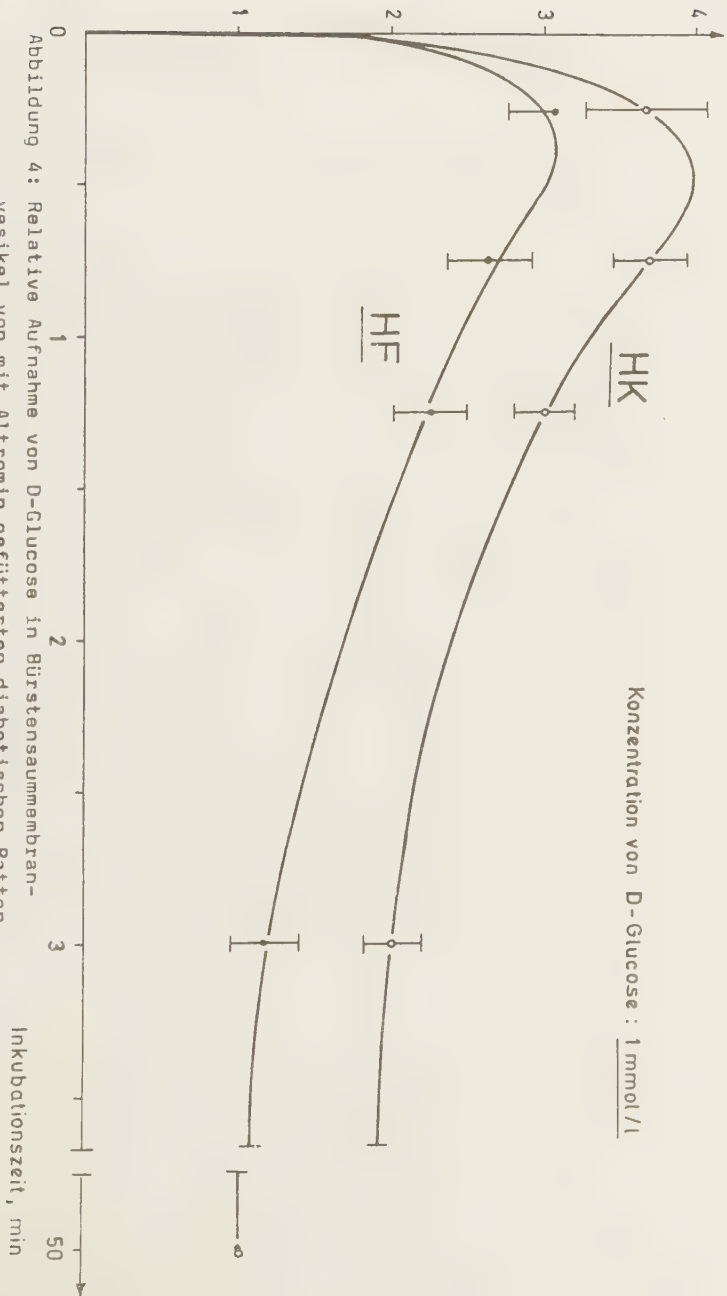


Abbildung 4: Relative Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembran-vesikel von mit Altromin gefütterten diabetischen Ratten und Kontrolltieren; Na^+ -Gradient: 100 mmol/l; Gleichgewichtszustand = 1; der Gruppenunterschied ist bei folgenden Inkubationszeiten signifikant ($p < 0.05$): 45 s, 75 s, 3 min.

beiden Gruppen waren bei 45 s, 75 s und 3 min signifikant.

ZEITVERLAUF DER AUFNAHME VON D-GLUCOSE IN BÜRSTEN- SAUMMEMBRANVESIKEL VON DIABETISCHEN HF-RATTEN UND HF-KONTROLLRATTEN

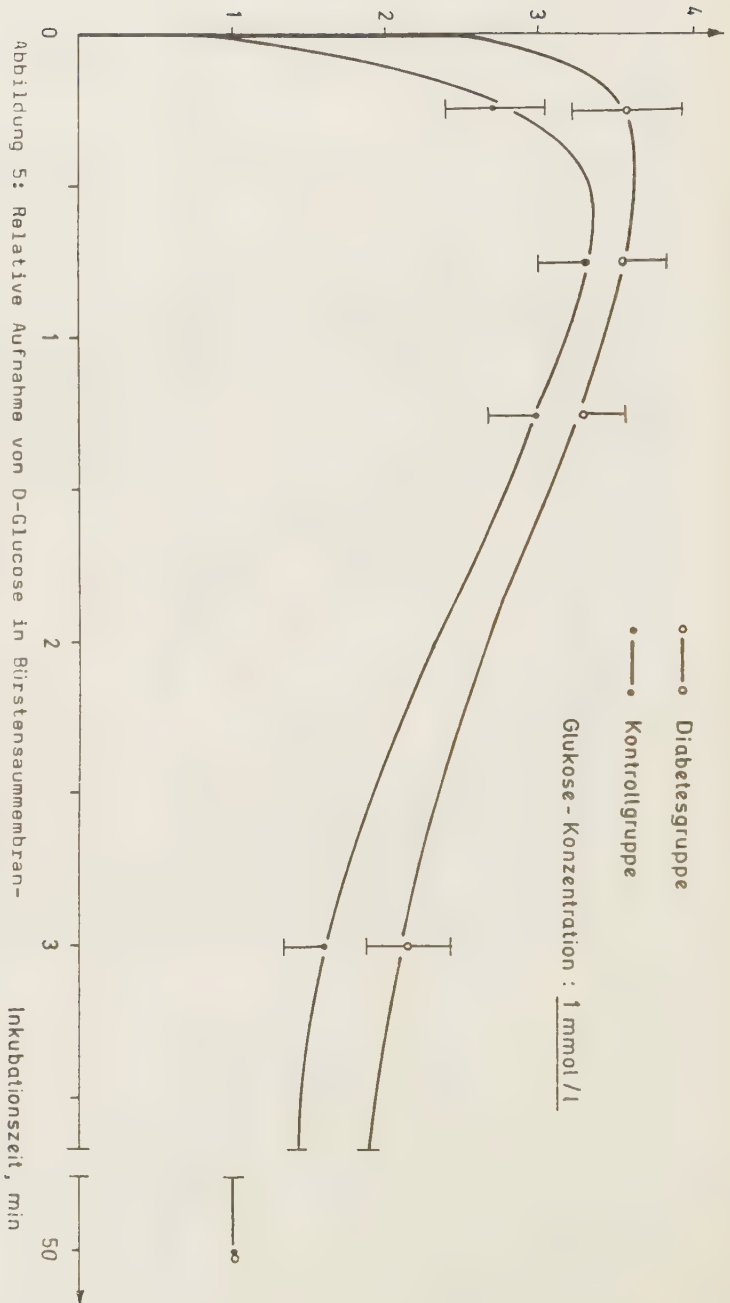
Bei Bestehen eines transmembranalen Na^+ -Gradienten war die Aufnahme von D-Glucose in die Bürstensaummembranvesikel, verglichen mit der Aufnahme bei Na^+ -Gleichgewicht, bei der HF-Diabetesgruppe nach einer Inkubation von 15 s, 45 s, 75 s und 3 min, bei der HF-Kontrollgruppe nach 15 s, 45 s und 75 s signifikant höher (Tab. 12). Ferner zeigte die HF-Diabetesgruppe bei Vorhandensein eines Na^+ -Gradienten eine deutliche Mehraufnahme von D-Glucose gegenüber der HF-Kontrollgruppe. Der Unterschied war bei einer Inkubationszeit von 15 s, 45 s, 75 s und 3 min signifikant (Tab. 12).

Die Darstellung der D-Glucose-Aufnahme bei Bestehen eines Na^+ -Gradienten in Relation zum Gleichgewichtswert ergab bei der HF-Diabetesgruppe eine maximale Aufnahme in Höhe des 3,6-fachen Gleichgewichtswertes bei einer Inkubationszeit von 15 s, während diese in der HF-Kontrollgruppe mit einem Faktor von 3,3 bei 45 s lag (Abb. 5). Die relative Darstellung zeigt keine signifikanten Unterschiede in der D-Glucose-Aufnahme zwischen der Diabetes- und der Kontrollgruppe (Abb. 5).

Tabelle 12: Aufnahme von D-Glucose in Bürstensaummembranvesikel
von HF-Ratten
Konzentration von D-Glucose: 1 mmol/l

Inkubationszeit	Diabetesgruppe (n=5) ¹⁾		Kontrollgruppe (n=5) ¹⁾	
	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l) pmol/mg Protein	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l) pmol/mg Protein	mit Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l) pmol/mg Protein	ohne Na ⁺ -Gradient (100 mmol/l) pmol/mg Protein
15 s	2082 ± 149 ⁺) p < 0.002	459 ± 136	543 ± 85 ⁺) p < 0.05	226 ± 19
45 s	2060 ± 289 ⁺) p < 0.002	660 ± 120	663 ± 149 ⁺) p < 0.05	277 ± 55
75 s	1906 ± 265 ⁺) p < 0.002	686 ± 58 ^{*)}	597 ± 98 ⁺) p < 0.05	213 ± 40 ^{*)}
3 min	1249 ± 224 ⁺) p < 0.05	676 ± 84	336 ± 78 ⁺) n.s.	293 ± 77
50 min	582 ± 139 n.s.	408 ± 76	201 ± 44 n.s.	266 ± 84

- 1) Anzahl der Versuche in Klammern
 +) Unterschied zwischen Diabetesgruppe und Kontrollgruppe signifikant (p < 0.05)
 *) Unterschied zwischen Diabetesgruppe und Kontrollgruppe signifikant (p < 0.05)
 für Gruppe ohne Na⁺-Gradient



Die Tabellen 13 und 14 geben einen Überblick über die Gewichtsentwicklung der Tiere, die Blutglucosewerte im venösen Blut, sowie über die intestinale Enzymaktivität der Saccharase, die als "Marker-Enzym" für die Anreicherung der Bürstensaummembranen untersucht wurde, da sie in der Bürstensaummembran lokalisiert ist.

Nach den Tabellen 13 und 14 ergab sich für die Saccharaseaktivität in den Bürstensaummembranen gegenüber dem Mucosahomogenat eine Anreicherung um etwa den Faktor 20. Dieser Faktor spiegelt einen befriedigenden Reinheitsgrad der Bürstensaummembranvesikel wider (Kessler et al., 1978). Aus der Tabelle 13 geht weiter hervor, daß bei Altromin-Fütterung Diabetes zu einer Zunahme der intestinalen Saccharaseaktivität führte. Bei HF-Fütterung war dies nur andeutungsweise der Fall (Tabelle 14). Wie Tabelle 14 zeigt, führt auch HK- gegenüber HF-Fütterung in Übereinstimmung mit den Befunden von Raab (1979) zu einer Steigerung der intestinalen Saccharaseaktivität.

Tabelle 13: Daten zu den mit Altromin ernährten Ratten

	Diabetesgruppe	Kontrollgruppe
Tierzahl	49	40
tägliche Zunahme (g)	-3.6	+2.0
Blutglucose (mg/100 ml)	354 $\pm$ 10	87 $\pm$ 12
spezifische Saccharase- aktivität (E/g Protein):		
Homogenat	52.3 $\pm$ 5	26.6 $\pm$ 13
isolierte Bürstensaummembran	939.0 $\pm$.73	497.0 $\pm$ 164
Anreicherungsfaktor	17.9 $\pm$ 4	18.7 $\pm$ 3

Das Durchschnittsgewicht der Tiere betrug bei Versuchsbeginn 220 g.

Tabelle 14: Daten zu den HF-Ratten mit und ohne Diabetes sowie zu den HK-Ratten

	HF-Diabetes	HF-Kontrollen	HK-Kontrollen
Tierzahl	20	40	20
tägliche Zunahme (g)	-1.1	+3.5	+3.0
Blutglucose (mg/100 ml)	209 $\pm$ 11	83 $\pm$ 8	88 $\pm$ 9
spezifische Saccharase-aktivität (E/g Protein):			
Homogenat	10.3 $\pm$ 1 ⁺)	7.4 $\pm$ 1 ⁺)	34.4 $\pm$ 6
isolierte Bürstensaummembran	231.0 $\pm$ 43 ⁺)	164.5 $\pm$ 35 ⁺)	702.4 $\pm$ 69
Anreicherungsfaktor	22.5 $\pm$ 4	22.3 $\pm$ 4	20.4 $\pm$ 3

Das Durchschnittsgewicht der Tiere betrug bei Versuchsbeginn 223 g.

⁺) Der Unterschied zur Gruppe HK-Kontrollen ist signifikant ($p < 0.05$)

D I S K U S S I O N

Nach Untersuchungen einiger Autoren unterliegt die intestinale Monosaccharidresorption adaptiven Veränderungen. So ist z.B. bekannt, daß die Glucose-resorption nach mehrstündiger Erhöhung des Blut-glucosespiegels infolge einer kontinuierlichen Glucoseinfusion in die Blutbahn ansteigt (Esposito et al., 1981, Csáky und Fischer, 1977).

Auch bei Ratten mit experimentell induziertem Diabetes erfolgt die Glucoseresorption beschleunigt (Tyrell und Anderson, 1971, Schedl und Wilson, 1971, Thomson, 1981). Das gleiche scheint für kohlenhydratreich ernährte Ratten zu gelten (Kelch, 1973, Scharrer et al., 1981).

Da die Glucoseresorptionsgeschwindigkeit sowohl durch den aktiven mittels des transmembranalen Na^+ -Gradienten angetriebenen Transports von Glucose durch die intestinale Bürstensaummembran als auch durch den mittels erleichterter Diffusion erfolgenden Austritt von Glucose durch die basolaterale Membran der Dünndarmepithelzelle determiniert wird, wurde in der vorliegenden Arbeit geprüft, inwieweit der aktive Glucosetransport durch die intestinale Bürstensaummembran adaptiven Veränderungen unterliegt. Insbesondere interessierte, ob der aktive Glucose-transport durch die intestinale Bürstensaummembran bei Ratten mit experimentellem Diabetes sowie bei kohlenhydratreich ernährten Ratten (HK-Ratten) im Vergleich zu fettreich ernährten Ratten (HF-Ratten)

verändert ist. Die Untersuchungen wurden an intestinalen Bürstensaummembranvesikeln durchgeführt, da mit Hilfe dieser Präparation der Glucosetransport durch die Bürstensaummembran der Dünndarmepithelzelle isoliert untersucht werden kann. Aufgrund der Anreicherung der Saccharaseaktivität in den Bürstensaummembranen im Vergleich zum Dünndarmmucosahomogenat um den Faktor 20 kann die Reinheit der Bürstensaummembranvesikel als befriedigend angesehen werden (Hopfer et al., 1976, Kessler et al., 1978). Die Glucoseaufnahme in die Vesikel wurde sowohl bei Vorhandensein eines in das Vesikellumen hinein gerichteten Na^+ -Gradienten als auch unter Na^+ -Gleichgewichtsbedingungen (Na^+ -Konzentration im Inkubationsmedium = Na^+ -Konzentration im Vesikellumen) untersucht. Dabei ergab sich unter Na^+ -Gradienten-Bedingung bezüglich der Glucose-Aufnahme in die Vesikel stets ein anfänglicher "overshoot" über die Gleichgewichtswerte (=50 min-Werte) hinaus. Dieser "overshoot" spiegelt den durch den transmembranalen Na^+ -Gradienten getriebenen transmembranalen Glucosetransport gegen ein Konzentrationsgefälle wieder. Die Entstehung dieses "overshoots" läßt sich folgendermaßen erklären (Murer und Hopfer, 1977): Bei Inkubationsbeginn besteht ein elektrochemisches Na^+ -Potentialgefälle über die Membran hinweg. Beim Ausgleich dieses Potentials wird Energie freigesetzt, die auch nach Ausgleich des anfänglichen transmembranalen Glucosekonzentrationsgradienten eine Aufnahme in die Vesikel ermöglicht, so daß daraus ein "overshoot" resultiert. Nach Ausgleich des elektrochemischen Na^+ -Gradienten über die Bürstensaummembran hinweg tritt das Substrat (Glucose) wieder aus dem

Vesikellumen aus, bis sich ein Substratgleichgewicht zwischen Vesikelinhalt und umgebendem Medium eingestellt hat. Der Gleichgewichtszustand für das Substrat ist erreicht.

Unter Na^+ -Gleichgewichtsbedingungen ergab sich erwartungsgemäß kein "overshoot".

Das Bestehen eines Diabetes mellitus führte bei mit einem handelsüblichen Rattenfutter (Altromin) gefütterten Ratten bezüglich der Glucoseaufnahme in die Vesikel zu einer Erhöhung des "overshoots". Ein ähnlicher Effekt wurde bei HK-Ratten im Vergleich zu HF-Ratten festgestellt.

Als naheliegendste Erklärung für diese Befunde kann eine Aktivierung bzw. Induktion von D-Glucose-Carriern in der intestinalen Bürstensaummembran in Betracht gezogen werden. Die Transporterhöhung nach kohlenhydratreicher Fütterung scheint für die Aufnahme von Zuckern ein spezifischer Effekt zu sein, da unter ähnlichen Bedingungen eine Depression der Aminosäureaufnahme festgestellt werden konnte (Scharrer et al., 1981, Wolffram, 1982).

Auch Hopfer (1975) ermittelte an isolierten Bürstensaummembranvesikeln von diabetischen Ratten für die Glucoseaufnahme einen gegenüber Vesikeln von Kontrolltieren erhöhten "overshoot". Die Glucoseaufnahme in die Vesikel wurde in dieser Untersuchung jedoch nur bei einer Glucosekonzentration (1 mmol/l) gemessen. Ferner war der "overshoot" sehr viel geringer als in unseren Versuchen. Unsere Ergebnisse bestätigen und erweitern somit die Befunde von Hopfer (1975), der zudem bezüglich der Fütterung der für die Versuche verwendeten Ratten keine Angaben macht. Als Erklärung für den größeren "overshoot" der Glu-

coseaufnahme in die Vesikel bei den diabetischen Ratten zog Hopfer aufgrund zusätzlicher Versuche eine verringerte Na^+ -Leitfähigkeit der Bürstensaummembran von diabetischen Ratten in Betracht. Eine verringerte Na^+ -Leitfähigkeit hat nämlich zur Folge, daß sich der Na^+ -Gradient über die Bürstensaummembran hinweg langsamer abbaut und damit die Energiebereitstellung für das Zustandekommen des "overshoots" länger erhalten bleibt. Allerdings hätte sich, wenn diese Erklärung zuträfe, in unseren Versuchen auch bei hoher Glucosekonzentration (8 mmol/l) bei den diabetischen Ratten im Vergleich zu den Kontrollratten ein größerer "overshoot" ergeben müssen, was nicht der Fall war. Insofern ist diese Interpretation in Frage zu stellen.

Interessanterweise ergab sich bei diabetischen HF-Ratten gegenüber den betreffenden Kontrolltieren bezüglich der Glucoseaufnahme in die Vesikel relativ gesehen kein signifikant größerer "overshoot". Offensichtlich hängt somit der Einfluß des Diabetes auf den intestinalen Glucosetransport von der Fütterung ab, da bei "Altromin"-Fütterung ein deutlicher diesbezüglicher Unterschied auftrat. In diesem Zusammenhang ist herauszustellen, daß der Kohlenhydratanteil des Altromins etwa 50 % beträgt, wogegen in der HF-Diät praktisch keine Kohlenhydrate enthalten waren. Insbesondere tritt auch die bei kohlenhydratreicher Fütterung zu verzeichnende Hyperphagie diabetischer Ratten bei fettreicher Fütterung nicht mehr in Erscheinung (Baxter und Schofield, 1980). Die bei kohlenhydratreich gefütterten diabetischen Ratten gegenüber den Kontrollratten zu verzeichnende Stimulierung des aktiven Glucosetransports durch die

intestinale Bürstensaummembran könnte somit mit der erhöhten Kohlenhydrataufnahme über die Nahrung zusammenhängen. Dazu paßt auch der bezüglich der Glucoseaufnahme in die Vesikel bei den HK-Ratten im Vergleich zu den HF-Ratten ermittelte größere relative "overshoot".

Inwieweit der Blutglucosespiegel, der ja bei diabetischen Ratten erhöht ist, den Glucosetransport durch die intestinale Bürstensaummembran beeinflußt, ist eine offene Frage. Es wurde zwar wiederholt gezeigt, daß sich eine durch kontinuierliche Glucoseinfusion in die Blutbahn hervorgerufene längerfristige Erhöhung des Blutglucosespiegels stimulierend auf den Glucosetransport durch die Dünndarmwand auswirkt (Csáky und Fischer, 1981, Esposito et al., 1981), die betreffenden Autoren erklären diesen Befund jedoch mit einem beschleunigten Glucoseaustritt durch die basolaterale Membran der Epithelzelle in die Lamina propria mucosae. Ferner konnte unter in-vivo-Bedingungen der betreffende Befund nicht bestätigt werden (Csáky und Fischer, 1977).

Auffällig bei unseren Untersuchungen waren bezüglich der Glucoseaufnahme in die Vesikel die höheren Gleichgewichtswerte bei den diabetischen im Vergleich zu den Kontrollratten sowie bei den HK- im Vergleich zu den HF-Ratten. Die Ursachen für diese Unterschiede sind unklar. Ein Grund für die Entstehung unterschiedlicher Gleichgewichtswerte könnte eine differierende Proportion von geschlossenen Vesikeln zu nicht dichten Vesikeln nach der Präparation sein. Die aus dem relativen "overshoot" der Glucoseaufnahme in die Vesikel abgeleiteten Schlußfolgerungen dürften dadurch allerdings nicht beeinträchtigt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war es zu prüfen, ob der aktive Transport von D-Glucose durch die Bürstensaummembran des Dünndarmepithels adaptiven Veränderungen unterliegt. Zu diesem Zweck wurden die Auswirkungen von durch Injektion von Streptozotocin induziertem Diabetes sowie von kohlenhydratreicher (=HK-) gegenüber kohlenhydratarmer fettreicher (=HF-) Ernährung auf den Glucosetransport durch die intestinale Bürstensaummembran untersucht. Die Untersuchungen wurden an isolierten Bürstensaummembranvesikeln von Ratten durchgeführt. Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

- 1.) Der Zeitverlauf der Aufnahme von ^{14}C -markierter D-Glucose in die Vesikel zeigte bei Vorhandensein eines transmembranalen Na^+ -Gradienten ($[\text{Na}^+]_{\text{außen}} > [\text{Na}^+]_{\text{innen}}$) in allen Versuchen einen initialen "overshoot" über die Gleichgewichtswerte (=50 min-Werte) hinaus, der den aktiven transmembranalen Glucosetransport widerspiegelt.
- 2.) Unter Na^+ -Gleichgewichtsbedingungen ($[\text{Na}^+]_{\text{außen}} = [\text{Na}^+]_{\text{innen}}$) trat dieser "overshoot" nicht auf.
- 3.) Bei niedrigen Glucosekonzentrationen des Inkubationsmediums (1 mmol/l und 3 mmol/l) war der "overshoot" bei Vesikeln von mit einem handelsüblichen Rattenfutter gefütterten diabetischen Ratten größer als bei Vesikeln von Kontrolltieren. Bei höherer Glucosekonzentration (8 mmol/l) war dies nicht der Fall.

4.) Zwischen diabetischen HF-Ratten und HF-Kontrollratten ergab sich auch bei niedriger Glucosekonzentration (1 mmol/l) kein gesicherter diesbezüglicher Unterschied.

5.) Bei Vesikeln von HK-Ratten war der "overshoot" signifikant größer als bei Vesikeln von HF-Ratten.

Aus den Ergebnissen läßt sich ableiten, daß Diabetes nur unter bestimmten Bedingungen zu einer Stimulierung des aktiven Glucosetransports durch die intestinale Bürstensaummembran führt. Ferner scheint sich dieser Transportprozeß auch an den Kohlenhydratgehalt der Nahrung anzupassen.

S U M M A R Y

STUDIES ON THE ADAPTATION OF ACTIVE INTESTINAL GLUCOSE TRANSPORT WITH ISOLATED BRUSH BORDER MEMBRANE VESICLES

It was the aim of the present study to investigate, whether active glucose transport across the intestinal brush border membrane undergoes adaptive changes. Therefore, glucose transport across the brush border membrane as affected by diabetes induced by injection of streptozotocine or by feeding a high carbohydrate (HK) as compared to a low carbohydrate high fat (HF) diet was studied. The experiments were carried out with isolated rat brush border membrane vesicles.

The subsequent results were obtained:

- 1.) In the presence of a transmembranal Na^+ -gradient ($[\text{Na}^+]_{\text{out}} > [\text{Na}^+]_{\text{in}}$) the time course of the uptake of ^{14}C -labeled D-glucose into the vesicles showed an initial "overshoot" beyond the equilibrium values (50 min values). The "overshoot" reflects the active transmembranal glucose transport.
- 2.) Under Na^+ equilibrium conditions ($[\text{Na}^+]_{\text{out}} = [\text{Na}^+]_{\text{in}}$) the "overshoot" did not occur.
- 3.) At low glucose concentrations of the incubation medium (1 mmol/l and 3 mmol/l) the "overshoot" was greater in vesicles from diabetic rats fed a commercially available rat diet than in those from control rats. At a higher glucose concentration (8 mmol/l) this was not the case.
- 4.) Between diabetic HF-rats and HF-control rats there was no such difference at a low glucose concentration (1 mmol/l).

5.) In Vesicles from HC-rats the "overshoot" was significant greater than in those from HF-rats.

It is inferred from the results that diabetes leads to a stimulation of active glucose transport across the intestinal brush border membrane only under certain conditions. Furthermore, this transport process appears to adapt to the carbohydrate content of the diet.

S C H R I F T T U M

Anderson, J.W., 1974

Glucose metabolism in jejunal mucosa of
fed, fasted and streptozotocine-diabetic
rats

Am. J. Physiol. 226, 226-229

Baxter, L.C.A. and P.J. Schofield, 1980

The effect of a high fat diet on chronic
streptozotocine-diabetic rats

Diabetologia 18, 239-245

Bennets, R. and K. Ramaswamy, 1980

Transport of glucose and leucine by intesti-
nal membrane vesicles in genetic diabetes

Am. J. Physiol. 238, G419-423

Billington, T. and P.R. Nayudu, 1978

Glucose-binding membrane proteins

Austr. J. Exp. Biol. and Med. Sci. 56, 760-770

Bronk, J.R. and D.S. Parsons, 1965

Influence of the thyroid gland on the
accumulation of sugars in rat intestinal
mucosa during absorption

J. Physiol. 179, 323-332

Bynum, T.E., E.D. Jacobson, L.R. Johnson, 1971

Gastrin inhibition of intestinal absorption
in dogs

Gastroenterology 61, 858-862

- Carpenter, M. and J. Musacchia, 1978
Chronic heat exposure and intestinal absorption of sugars in hamster
Comp. Biochem. Physiol. 60 A, 411-416
- Caspary, W.F., 1970
Effect of biguanides on intestinal transport of sugars, amino acids and calcium
Verh. Deutsch. Pharmacol. Ges.
(Eds.: F. Gross, E. Hackenthal and V.A.W. Kreys), 421-422, Heidelberg
- Crane, R.K., 1960
Intestinal absorption of sugars
Physiol. Rev. 40, 789
- Crane, R.K., 1967
Absorption of sugars
In: Handbook of physiology, section 6,
(Ed.: R. Greep), 1323-1334, American Physiological Society, Washington
- Crane, R.K., P. Malathi, H. Preiser, 1976
Reconstitution of specific Na^+ -dependent D-Glucose transport in liposomes by Triton X-100 extracted proteins from purified brush border membranes of hamster small intestine
Biochem. Biophys. Res. Comm. 71, 136-150

- Crouzoulon, G., C. Crouzoulon-Bourgart, G. Pérè, 1968
Recherches sur l'absorption intestinale
des hexoses
1. Effets du jeûne sur l'absorption du
glucose et le métabolisme de la muqueuse
intestinale
C. R. Soc. Biol. 162, 2131
- Csáky, T.Z. and E. Fischer, 1977
Induction of an intestinal epithelial
sugar transport system by high blood sugar
Experientia 33, 223-224
- Csáky, T.Z. and E. Fischer, 1981
Intestinal sugar transport in experimen-
tal diabetes
Diabetes 30, 568-574
- Dahlquist, A., 1964
Method for assay of intestinal disacchari-
dases
Analyt. Biochem. 7, 18-25
- Debnam, E.S. and R.J. Levin, 1971
Evidence for separate hexose carriers in
the small intestine uncovered by fasting
and glucose alimentation
J. Physiol. 218, 38

- Debnam, E.S. and R.J. Levin, 1975
Effects of fasting and semistarvation on
the kinetics of active and passive sugar
absorption across the small intestine
in vivo
J. Physiol. 252, 681-700
- Deren, J.J., S.A. Broitman, N. Zamcheck, 1967
Effect of diet upon intestinal disacchari-
dases and disaccharide absorption
J. Clin. Invest. 46, 186-195
- Douglas, A.P., R. Kerley, K.J. Isselbacher, 1972
Preparation and characterization of the
lateral and basal plasma membranes of the
rat intestinal epithelial cell
Biochem. J. 128, 1329-1338
- Eichholz, A., 1967
Structural and functional organization
of the brush border of intestinal epi-
thelial cells
III. Enzymic activities and chemical com-
position of various fractions of tris-
disrupted brush borders
Biochim. Biophys. Acta 135, 475-482
- Esposito, G., A. Faelli, M. Tosco, V. Capraro, 1981
Hyperglycemia and net transintestinal
glucose and sodium transport in the rat
Pflügers Arch. 390, 202-206

Faust, R.G. and S.G. Shearin, 1974

Molecular weight of a D-glucose and L-histidine-binding protein from intestinal brush borders

Nature 248, 60-61

Gibbs, E.M., M. Hosang, B.F.X. Reber, G. Semenza, D.F. Diedrich, 1982

4-Azidophlorizin, a high affinity probe and photoaffinity label for the glucose transporter in brush border membranes

Biochim. Biophys. Acta 688 547-556

Ginsburg, J.M. and F.W. Heggeness, 1968

Adaptation in monosaccharide absorption in infant and adult rats

J. Nutr. 96, 494-498

Goldner, A.M., 1973

Sodium-dependent sugar transport in the intestine

Metabolism 22, 241-248

Gracey, M., V. Burke, A. Oshin, 1972

Active intestinal transport of D-fructose

Biochim. Biophys. Acta 266, 397-406

Groseclose, R. and U. Hopfer, 1978

Small intestinal sugar and amino acid transport in semistarvation

Membrane Biochem. 2, 135-148

- Hamilton, J.D. and H.B. McMichael, 1968
Role of the microvillus in the absorption
of disaccharides
Lancet 2, 154-158
- Havivi, E. and R. Levitan, 1971
Absorption of glucose and galactose from
the small intestine of hypophysectomized
rats
Digestive Diseases 16, 61-69
- Hilden, S. and B. Sacktor, 1982
Potential-dependent D-glucose uptake by
renal brush border membrane vesicles in
the absence of sodium
Am. J. Physiol. 242, F340-345
- Hopfer, U., K. Nelson, J. Perotto, K. Isselbacher, 1973
Glucose transport in isolated brush border
membranes from rat small intestine
J. Biol. Chem. 248, 25-32
- Hopfer, U., K. Sigrist-Nelson, R. Groseclose, 1976
Jejunal and ileal D-glucose transport in
isolated brush border membranes
Biochim. Biophys. Acta 426, 349-353
- Hopfer, U., 1977
Isolated vesicles as tools for analysis
of epithelial transport
Am. J. Physiol. 233, E445-449

Hopfer, U., 1975

Diabetes mellitus: changes in the transport properties of isolated intestinal microvillous membranes

Proc. Nat. Acad. Sci. 72, 2027-2031

Jordana, R. and F. Ponz, 1969

Effects of the x-irradiation in vitro on the O_2 uptake and on the utilization of glucose by the intestine

R. esp. Fisiol. 25, 129-136

Kelch, G., 1973

Zur Abhängigkeit der Zuckerresorption vom Kohlenhydratgehalt der Nahrung

Diss. med. vet. München

Kessler, M., O. Acuto, C. Storelli, H. Müller, H. Murer, G. Semenza, 1978

A modified procedure for the rapid preparation of efficiently transporting vesicles from small intestinal brush border membranes. Their use in investigating some properties of D-glucose and choline transport systems

Biochim. Biophys. Acta 506, 136-154

Kimmich, G.A., C. Carter-Su, J. Randles, 1977

Energetics of Na^+ -dependent sugar transport by isolated intestinal cells: Evidence for a major role for membrane potentials

Am. J. Physiol. 230, E357-362

- Kit Yin Ling, K., J. Wha Bin Im, R.G. Faust, 1981
Na⁺-dependent uptake by rat intestinal
and renal brush border and basolateral
membrane vesicles
J. Biochem. 13, 693-700
- Kleinzeller, A., J. Kolinská, J. Beneš, 1967
Transport of monosaccharides in kidney
cortex cells
J. Biochem. 104, 852-860
- Klip, A., S. Grinstein, G. Semenza, 1979
Transmembrane disposition of the phlori-
zin-binding protein of intestinal
brush borders
FEBS Letters 29, 91-96
- Lemaire, J. and D. Maestracchi, 1978
Labeling of a glucose binding protein
in the rabbit intestinal brush border
membrane
Can. J. Physiol. Pharmacol. 56, 760-770
- Leveille, G.A. and K. Chakrabarty, 1968
Absorption and utilisation of glucose by
meal-fed and nibbling rats
J. Nutr. 916, 69-74
- Levin, R.J. and D.H. Smith, 1963
The effect of the thyroid gland on
intestinal absorption of hexoses
J. Physiol. 169, 755-769

Madge, D.S., 1969

Effect of antibiotics on intestinal
absorption in guinea pigs

Comp. Biochem. Physiol. 30, 295-307

Madge, D.S., 1972

Fluid and glucose movement across the
small intestine in laboratory mammals

Comp. Biochem. Physiol. 43 A, 565-575

Madge, D.S., 1973

Feed additives and intestinal absorption
in mice

Comp. gen. Pharmacol. 4, 365-373

Mainoya, J.R., 1975

Effect of prolactin on sugar and amino
acid transport by the rat jejunum

J. Exp. Zool. 192, 149-154

Marliss, E.B., T.T. Aoki, R.H. Unger, J.S. Soeldner,
G.F. Cahill, 1970

Glucagon levels and metabolic effects in
fasting man

J. Clin. Invest. 49, 2256-2270

Matuchansky, C. and J.J. Bernier, 1973

Effect of prostaglandin E₁ on glucose,
water and electrolyte absorption in
the human jejunum

Gastroenterology 64, 1111-1118

- McManus, J.P.H. and K.J. Isselbacher, 1970
Effect of fasting versus feeding on
the rat small intestine
Gastroenterology 59, 214-219
- Miller, G.L., 1959
Protein determination for large numbers
of samples
Annual. Chem. 31, 964
- Müller, W.A., G.R. Faloona, R.H. Unger, 1970
The effect of experimental insulin deficiency
on glucagon secretion
J. Clin. Invest. 50, 1992-1999
- Murer, H. and U. Hopfer, 1974
Demonstration of electrogenic Na^+ -dependent
D-glucose transport in the intestinal
brush border membranes
Proc. Nat. Acad. Sci. 71, 484-488
- Murer, H. and U. Hopfer, 1977
The functional polarity of the intestinal
epithelial cell: Studies with isolated
plasma membrane vesicles
In: Intestinal Permeation (Eds.: M. Kramer
and F. Lauterbach), 294-312
Excerpta Medica, Amsterdam

Murer, H., U. Hopfer, R. Kinne, 1977

Adenylate cyclase system in the enterocyte:
Cellular localisation and possible relation
to transepithelial transport

In: Hormonal Receptors in Digestive Tract
Physiology (Eds.: S. Bonfils, P. Fromageot
and G. Rosselin), 425-434,
Elsevier/North-Holland, Amsterdam

Neil, D.R. and J.H. Rosenberg, 1973

Chronic glucagon administration enhances
intestinal transport in the rat

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 142, 521-525

Olsen, W.A. and J.H. Rosenberg, 1970

Intestinal transport of sugars and amino
acids in diabetic rats

J. Clin. Invest. 49, 96-105

Peterlik, M., R. Fuchs, H. Sing-Cross, 1981

Stimulation of D-glucose transport
A novel effect of vitamin D on intestinal
membrane transport

Biochim. Biophys. Acta 649, 138-142

Pearson, T.W., J.A. Estep, A.M. Goldner, 1980

Effect of phenethylbiguanide on sugar and
amino acid transport in rabbit ileum

Life Sci. 26, 2293

- Potter, G.D., K.L. Schmidt, R. Lester,
S.G. Schultz, 1982
Glucose absorption by in vitro perfused
ileum of the rat
Am. J. Physiol. 242, G642-649
- Raab, W., 1979
Einfluß der Ernährung auf Enzymaktivitäten
des intestinalen Bürstensaums
Diss. med. vet. München
- Raheja, K.L., J. Tepperman, H.M. Tepperman, 1977
The effect of age on intestinal glucose
transport in the chick (*Gallus domesticus*)
Comp. Biochem. Physiol. 58 A, 245-248
- Ramaswamy, K., M.A. Peterson, P.W. Flint,
G.E. Whalen, 1980
Transport of monosaccharides by the small
intestine of genetically diabetic mice
Gastroenterology, 78, 464-469
- Robinson, J.W.L. and A.L. Luisier, 1973
Inhibition of renal sugar and amino acid
transport by n-butyl-biguanide
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.
278, 23-34
- Rudo, N.D., J.H. Rosenberg, R.W. Wissler, 1976
The effect of partial starvation and glu-
cagon treatment on intestinal villus mor-
phology and cell migration
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 142, 521-525

- Scharrer, E., K. Müller, H. Zucker, 1967
Veränderungen des Glucosestoffwechsels
im Rattendarm durch Adaptation an protein-
reiche Ernährung
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 348, 720-722
- Scharrer, E. und H. Zucker, 1969
Verringerung der Glucoseutilisation
des Dünndarmes infolge proteinreicher
Ernährung
Ernährungswiss. 2, 312-321
- Scharrer, E., 1972
Aktiver transepithelialer Glucose- und
Galactosetransport im Kükendarm
Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittel-
kde. 29, 334
- Scharrer, E., W. Peter, W. Raab, 1979
Reciprocal relationship between rumen
development and intestinal sugar transport
capacity in sheep
Zbl. Vet. Med. A 26, 513-520
- Scharrer, E., S. Wolffram, W. Raab, B. Amann,
N. Agne, 1981
Adaptive changes of amino acid and sugar
transport across the brush border of rat
jejunum
In: Mechanisms of Intestinal Adaptation
(Eds.: J.W.L. Robinson, R.H. Dowling and
E.-O. Riecken), 123-129, MTP Press Limited
Falcon House, Lancaster, England

- Schedl, H.P. and H.D. Wilson, 1971
Effects of diabetes on intestinal growth
and hexose transport in the rat
Am. J. Physiol. 220, 1739-1745
- Schultz, S.G. and P.F. Curran, 1970
Coupled transport of Na^+ and organic
solutes
Physiol. Rev. 50, 637-718
- Suzuki, Y., 1978
Kinetic properties of galactose influx
across the mucosal border of guinea pig
ileum
Tokuhu J. Exp. Med. 126, 301-316
- Tannenbaum, C., G. Toggenburger, M. Kessler, 1977
High affinity phlorizin binding to brush
border membranes from small intestine:
Identity with (a part of) the glucose trans-
port system, dependence on the Na^+ -gradient,
partial purification
J. Supramolec. Struct. 6, 519-533
- Thomson, A.B.R., 1981
Uptake of glucose into the intestine of
diabetic rats
Effects of variations in the effective
resistance of the unstirred water layer
Diabetes 30, 247-255

Tyrell, J.B. and J.W. Anderson, 1971

Glycolytic and pentose phosphate pathway
enzymes in jejunal mucosa, adaptive responses
to alloxan-diabetes and fasting
in the rat

Endocrinology 89, 1178-1185

Whitmore, D.A. and K.P. Wheeler, 1980

Partial purification of a glucose transport
system from rat jejunum with the use of a
cationic surfactant

Biochem. Soc. Transactions 8, 318

Wolffram, S., 1982

Untersuchungen zur Adaptation des intestinalen
Aminosäuretransports an isolierten
Bürstensaummembranvesikeln

Diss. med. vet. München

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr.
E. Scharrer für die Überlassung des Themas
und die jederzeit gewährte freundliche
Unterstützung.

Ferner möchte ich mich bei allen Mitarbei-
tern des Isotopenlabors für ihre Hilfsbe-
reitschaft bedanken.

Diese Arbeit wurde von der Deutschen
Forschungsgemeinschaft unterstützt.

LEBENS LAUF

Name	Elmar Englmaier
15. Sept. 1957	geboren in Mühldorf a. Inn Vater: Josef Englmaier, Rektor Mutter: Anne Englmaier, geb. Gruber
Sept. 1963	Eintritt in die Volksschule Kraiburg a. Inn
Sept. 1967	Übertritt in das Ruperti- gymnasium Mühldorf a. Inn
Sept. 1974	Übertritt an das Aventinus- Gymnasium Burghausen
Juni 1975	Reifeprüfung
April 1976- Juli 1977	Wehrdienst bei der Gebirgs- truppe in Bad Reichenhall
Nov. 1977	Beginn des Studiums der Tiermedizin an der Ludwig- Maximilians-Universität München
Jan. 1983	Staatsexamen

